Disco reactivo para panel de bioquímica Plus de Piccolo®



Para uso diagnóstico in vitro y uso profesional solamente
Servicio y asistencia técnica al cliente: 800-822-2947

Julio 2011
PN: 400-7182 Rev: C

1. Uso previsto

El disco reactivo para panel de bioquímica Plus de Piccolo®, utilizado con el analizador químico xpress™ de Piccolo, está indicado para su uso para la determinación cuantitativa *in vitro* de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina, fosfatasa alcalina (ALP), amilasa, aspartato aminotransferasa (AST), proteína C reactiva (CRP), calcio, creatinina, gamma glutamil transferasa (GGT), glucosa, proteínas totales, nitrógeno ureico en sangre (BUN) y ácido úrico en sangre entera tratada con heparina-litio, plasma tratado con heparina-litio o suero en un laboratorio clínico o en una ubicación point-of-care. El método CRP de Abaxis no está indicado para la medición de CRP de alta sensibilidad.

2. Resumen y explicación de las pruebas

El disco reactivo para panel de bioquímica Plus de Piccolo y el analizador químico xpress de Piccolo constituyen un sistema de diagnóstico *in vitro* que ayuda al médico en el diagnóstico de las siguientes enfermedades.

Alanina aminotransferasa (ALT):	Enfermedades hepáticas, incluidas hepatitis viral y cirrosis.
Albúmina:	Enfermedades del hígado y del riñón.
Fosfatasa alcalina (ALP):	Enfermedades del hígado, óseas, paratiroideas e intestinales.
Amilasa:	Pancreatitis.
Aspartato aminotransferasa (AST):	Hepatopatías, incluidas hepatitis e ictericia viral, shock.
Proteína C reactiva (CRP):	Infección, daño tisular y trastornos inflamatorios.
Calcio:	Enfermedades de la glándula paratiroides, óseas y nefropatías crónicas; tétanos.
Creatinina:	Enfermedad renal y control de diálisis renal.
Gamma glutamil transferasa (GGT):	Hepatopatías, incluidas cirrosis hepática y tumores hepáticos primarios y secundarios.
Glucosa:	Alteraciones del metabolismo de carbohidratos, incluida la diabetes mellitus e hipoglucemia del adulto y juvenil.
Proteínas totales:	Hepatopatías, enfermedades del riñón o de la médula ósea; alteraciones metabólicas y de la nutrición.
Nitrógeno ureico en sangre (BUN):	Enfermedades renales y metabólicas.
Ácido úrico:	Alteraciones renales y metabólicas, incluida la insuficiencia renal y la gota.

Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, hay que tener en cuenta el resto de procedimientos de prueba, incluido el estado clínico del paciente, antes del diagnóstico final.

3. Principio del procedimiento

Alanina aminotransferasa (ALT)
La alanina aminotransferasa (ALT) ha sido medida mediante tres métodos. Dos de estos métodos, la técnica de acoplamiento colorimétrico por dinitrofenilhidracina[1,2] y el análisis enzimático fluorescente, se usan muy raramente.[3] La técnica más común para la determinación de las concentraciones de ALT en suero es un método enzimático basado en el trabajo de Wróblewski y LaDue[4]. La Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) ha propuesto como método recomendado un procedimiento Wróblewski y LaDue modificado.[5]

El método desarrollado para ser usado con los analizadores de Piccolo es una modificación del procedimiento recomendado por la IFCC. En esta reacción, la ALT cataliza la transferencia de un grupo amino de la L-alanina al α-cetoglutarato para formar L-glutamato y piruvato. La lactato deshidrogenasa cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, la NADH se oxida a NAD^+, como se observa en el esquema de la siguiente reacción.

$$\text{L-alanina} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{L-glutamato} + \text{piruvato}$$

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + \text{H}^{+} \xrightarrow{\text{LDH}} \text{lactato} + \text{NAD}^{+}$$

El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD^{+} y es directamente proporcional a la cantidad de ALT en la muestra.

Albúmina (ALB)
Los primeros métodos usados para medir la albúmina incluían técnicas de fraccionamiento[6,7,8] y contenido en triptofano las globulinas.[9,10] La realización de estos métodos es poco precisa y su especificidad es baja. Hay dos técnicas inmunoquímicas que se consideran métodos de referencia, pero son caras y requieren mucho tiempo.[11] Los métodos usados con mayor frecuencia para la determinación de la albúmina son las técnicas de unión a colorantes. El verde de bromocresol (BCG) es el más común de los métodos de unión al colorante, pero puede sobrestimar la concentración de albúmina, en especial en el extremo inferior del rango normal.[12] La púrpura de bromocresol (BCP) es el más específico de los colorantes en uso.[13,14]

La púrpura de bromocresol (BCP), al unirse a la albúmina, cambia su color de amarillo a azul. La absorbancia máxima cambia con el cambio de color.

$$\text{BCP} + \text{albúmina} \xrightarrow[\text{pH ácido}]{\text{Surfactantes}} \text{Complejo BCP-Albúmina}$$

La albúmina unida es proporcional a la concentración de albúmina presente en la muestra. Se trata de una reacción de punto final que se mide como la absorbancia a 600 nm.

Fosfatasa alcalina (ALP)
Las técnicas para medir la fosfatasa alcalina fueron creadas hace más de 60 años. En estos momentos, varios de estos métodos espectrofotométricos[15,16] de criterio de valoración o de dos puntos se consideran obsoletos o demasiado complicados. El uso de *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) aumentó la velocidad de la reacción.[17,18] La fiabilidad de esta técnica aumentó significativamente con el uso de un tampón con ión metálico para mantener la concentración de iones magnesio y zinc en la reacción.[19] El método de referencia de la Asociación Norteamericana de Química Clínica (AACC)[20] usa *p*-NPP como substrato y un amortiguador con ión metálico.

El procedimiento de Piccolo se modificó a partir de los métodos AACC e IFCC[21]. La fosfatasa alcalina hidroliza al *p*-NPP en un tampón con ión metálico y forma *p*-nitrofenol y fosfato.

$$p\text{-nitrofenil fosfato} \xrightarrow[\text{Zn}^{2+},\ \text{Mg}^{2+}]{\text{ALP}} p\text{-nitrofenol} + \text{fosfato}$$

La cantidad de ALP en la muestra es proporcional al índice de aumento de la diferencia de absorbancia entre 405 nm y 500 nm.

Amilasa (AMY)
Se desarrollaron 200 pruebas distintas para medir la amilasa. La mayoría de los procedimientos usan una solución polisacárida, pero emplean técnicas de detección distintas. Los métodos viscosimétricos carecen de precisión y exactitud[22], mientras que los métodos turbidimétricos y yodométricos son difíciles de estandarizar.[23,24] Los métodos usados con mayor frecuencia son los sacarogénicos y cromolíticos. La técnica "clásica" de medición de la amilasa es un método sacarogénico[25], pero es difícil y exige demasiado tiempo.[26] Los métodos cromolíticos que utilizan *p*-nitrofenilglucósidos como sustratos fueron desarrollados recientemente.[27] Estos análisis tienen mayor especificidad por la amilasa pancreática que por la salival y se controlan con facilidad.[27]

En el método de Piccolo, el sustrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil-α-D-maltotriosida (CNPG3), reacciona con la α-amilasa en la muestra del paciente, liberando 2-cloro-*p*-nitrofenol (CNP). La liberación del CNP crea un cambio en el color.

$$\text{CNPG3} \xrightarrow{\alpha\text{-amilasa}} \text{CNP} + \text{D-maltotriosida}$$

La reacción se mide bicromáticamente a 405 nm y 500 nm. El cambio en la absorbancia debido a la formación de CNP es directamente proporcional a la actividad de la α-amilasa en la muestra.

Aspartato aminotransferasa (AST)
La prueba de aspartato aminotransferasa (AST) se basa en el método de velocidad de Karmen[28] de acuerdo con la modificación de Bergmeyer.[29] El método de referencia actual de la Federación de Química Clínica (IFCC) utiliza la técnica de Karmen/ Bergmeyer del acoplamiento de malato deshidrogenasa (MDH) y nicotinamida dinucleótido reducida (NADH) en la detección de AST en suero.[29,30] Se agrega lactato deshidrogenasa (LDH) a la reacción para reducir la interferencia causada por el piruvato endógeno.

La AST cataliza la reacción de L-aspartato y α-cetoglutarato en oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato se convierte en malato y NADH se oxida a NAD^+ por el catalizador MDH.

$$\text{L-aspartato} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{AST}} \text{oxaloacetato} + \text{L-glutamato}$$

$$\text{Oxaloacetato} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{MDH}} \text{malato} + NAD^+$$

El cambio en el índice de absorbancia a 340 nm/405 nm debido a la conversión de NADH a NAD^+ es directamente proporcional a la cantidad de AST contenida en la muestra.

Proteína C reactiva (CRP)
Las pruebas originales para cuantificar la CRP se realizaron principalmente con fines de investigación y basándose en la metodología ELISA.[31] Más recientemente, se han utilizado métodos inmunonefelométricos mejorados con látex.[32] No obstante; esto requiere un nefelómetro para medir la dispersión de la luz. Se han diseñado varias pruebas inmunoturbidimétricas e inmunoluminométricas automatizadas que se pueden llevar a cabo con analizadores químicos clínicos convencionales.[33]

El método utilizado por Abaxis es un inmunoensayo turbidimétrico de aglutinación con látex. La muestra se mezcla con una suspensión de anticuerpos monoclonales de CRP antihumanos de ratón fijada al látex. La CRP en la muestra se une a las partículas de látex-anticuerpo y se aglutina creando turbidez. La dispersión de la luz de la turbidez se utiliza como medida de CRP. La turbidez se mide como un cambio en la absorbancia a 630 nm. Este cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la CRP en la muestra.

$$\text{Partículas de látex anti-CRP} + \text{CRP} \longrightarrow \text{Partículas de látex anti-CRP-CRP aglutinadas}$$

Calcio (CA)
Los primeros métodos usados para analizar el calcio comprendieron la precipitación del calcio con un exceso de aniones.[34,35,36] Los métodos de precipitación son complicados y suelen ser imprecisos. El método de referencia para el calcio es la espectroscopía por absorción atómica; sin embargo, este método no es adecuado para uso rutinario.[37] Los métodos espectrofotométricos mediante *o*-cresolftaleína complexona (CPC) o arsenazo III como indicadores metalocrómicos son los que se utilizan con mayor frecuencia.[38,39,40] El Arsenazo III tiene una gran afinidad por el calcio y no depende de la temperatura como el CPC.

El calcio presente en la muestra del paciente se une al arsenazo III para formar un complejo de tintura de calcio.

$$Ca^{2+} + \text{Arsenazo III} \longrightarrow \text{Complejo de } Ca^{2+}\text{-Arsenazo III}$$

La reacción de punto final es controlada a 405 nm, 467 nm y 600 nm. La cantidad de calcio total en la muestra es proporcional a la absorbancia.

Creatinina (CRE)
El método Jaffe, presentado en 1886, sigue siendo el método usado con mayor frecuencia para la determinación de los niveles de creatinina en la sangre. El método de referencia actual combina el uso de tierra de Fuller (floridina) con la técnica de Jaffé para aumentar la especificidad de la reacción.[41,42] Se desarrollaron métodos enzimáticos que son más específicos para la creatinina que las distintas modificaciones de la técnica de Jaffe.[43,44,45] Los métodos que utilizan la enzima creatinina amidohidrolasa eliminan los problemas de la interferencia del ión amoníaco que se encuentra en las técnicas que usan la creatinina iminohidrolasa.[46]

En las reacciones de acoplamiento de enzimas, la creatinina amidohidrolasa hidroliza la creatinina en creatina. Una segunda enzima, la creatina amidinohidrolasa, cataliza la formación de sarcosina a partir de la creatina. La sarcosina oxidasa provoca la oxidación de sarcosina a glicina, formaldehído y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). En un acabado Trinder, la peroxidasa cataliza la reacción entre el peróxido de hidrógeno, 2,4,6-tribromo-3-ácido hidroxinbenzoico (TBHBA) y 4-aminoantipirina (4-AAAP) en una tintura roja de quinoneimina. Se agregan ferrocianuro de sodio y ascorbato oxidasa a la mezcla de la reacción para reducir al mínimo la interferencia potencial de la bilirrubina y el ácido ascórbico, respectivamente.

$$\text{Creatinina} + H_2O \xrightarrow{\text{Creatinina amidohidrolasa}} \text{creatina}$$

$$\text{Creatina} + H_2O \xrightarrow{\text{Creatina amidinohidrolasa}} \text{Sarcosina} + \text{urea}$$

$$\text{Sarcosina} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{Sarcosina oxidasa}} \text{Glicina} + \text{formaldehído} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{TBHBA} + \text{4-AAP} \xrightarrow{\text{Peroxidasa}} \text{Colorante rojo de quinoneimina} + H_2O$$

Se utilizan dos cubetas para determinar la concentración de creatinina en la muestra. La creatina endógena se mide en la cubeta de referencia, que es restada de la creatina endógena combinada y la creatina formada a partir de las reacciones enzimáticas en la cubeta de prueba. Una vez eliminada la creatina endógena de los cálculos, la concentración de creatinina es proporcional a la intensidad del color rojo producido. El criterio de valoración de la reacción final se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 600 nm.

eGFR (calculada)
La creatinina sérica se mide de forma rutinaria como indicador de la función renal. Debido a que la edad, el sexo y la raza influyen en las concentraciones de creatinina, no es posible detectar la nefropatía crónica (CKD) tan solo mediante la creatinina sérica. Así pues, el National Kidney Disease Education Program (Programa Nacional de Educación sobre la Nefropatía) recomienda encarecidamente que los laboratorios informen de forma rutinaria de la tasa de filtración glomerular estimada (eGFR) cuando se mida la creatinina sérica en los pacientes mayores de 18 años. La comunicación de forma rutinaria de la eGFR junto con todas las determinaciones de creatinina sérica permite a los laboratorios ayudar a identificar a los individuos con función renal reducida y contribuye a facilitar la detección de la CKD. Los valores calculados de la eGFR < 60 ml/min generalmente están asociados a un mayor riesgo de resultados adversos de la CKD.[47,48,49]

Piccolo calcula la eGFR usando la edad, el sexo y la raza del paciente. El método de Piccolo para la creatinina es comparable con el método de referencia para la creatinina IDMS, de forma que se puede utilizar la siguiente forma de la ecuación MDRD para el cálculo de la eGFR.

$\text{GFR (mL/min/1,73 m}^2) = 175 \times (S_{cr})^{-1,154} \times (\text{edad})^{-0,203} \times (0,742 \text{ si es mujer}) \times (1,212 \text{ si es afroamericano})$

Gamma glutamil transferasa (GGT)
Los primeros métodos cuantitativos desarrollados para medir la gamma glutamil transferasa (GGT) precisaban una segunda reacción para formar un colorante azoico que se combinaba con un cromóforo.[50,51] El cambio a L-γ-glutamil-*p*-nitroanilida como el sustrato en la reacción eliminó el paso de formación del colorante.[52] Debido a la pobre solubilidad y estabilidad de L-γ-glutamil-*p*-nitroanilida, este procedimiento fue modificado para usar el sustrato L-γ-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida.[53] El método GGT recomendado por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) se basa en el último sustrato, con glicilglicina como el otro sustrato.[54]

Abaxis modificó el método IFCC para que reaccione a 37 °C. El agregado de una muestra con gamma glutamil transferasa a los sustratos L-γ-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida y glicilglicina (gly-gly) causa la formación de L-γ-glutamil-glicilglicina (glu-gly-gly) y 3-carboxi-4-nitroanilina.

$$\text{L-}\gamma\text{-glutamil-3-carboxi 4-nitroanilida} + \text{gly-gly} \xrightarrow{\text{GGT}} \text{Glu-gly-gly} + \text{3-carboxi-4-nitroanilina}$$

La absorbancia de este índice de reacción se mide a 405 nm. La producción de 3-carboxi-4-nitroanilina es directamente proporcional a la actividad de GGT en la muestra.

Glucosa (GLU)
Las mediciones de la concentración de glucosa fueron introducidas por primera vez mediante métodos de reducción del cobre (como Folin-Wu[55] y Somogyi-Nelson[56,57]). La falta de especificidad en las técnicas de reducción del cobre llevó al desarrollo de procedimientos cuantitativos con las enzimas hexoquinasa y glucosa oxidasa. La prueba de la glucosa incorporada en el disco reactivo para panel de bioquímica Plus es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que se propuso como la base para el método de referencia de la glucosa.[58]

La reacción de glucosa con adenosina trifosfato (ATP), catalizada por la hexoquinasa (HK), produce glucosa-6-fosfato (G-6-P) y adenosina difosfato (ADP). La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) cataliza la reacción de G-6-P en 6-fosfogluconato y la reducción de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+) a NADH.

$$\text{Glucosa} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{HK}} \text{G-6-P} + \text{ADP}$$

$$\text{G-6-P} + NAD^+ \xrightarrow{\text{G-6-PDH}} \text{6-fosfogluconato} + \text{NADH} + H^+$$

La absorbencia se mide bicromáticamente a 340 nm y 850 nm. La producción de NADH es directamente proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra.

Proteínas totales (TP)

El método de proteínas totales es una modificación de la reacción de Biuret, remarcable por su precisión, exactitud y especificidad.[59] Desarrollada originariamente por Riegler[60] y modificada por Weichselbaum[61], Doumas, et al.[62] propusieron una reacción de Biuret como posible método de referencia para las proteínas totales.

En la reacción de Biuret, la solución de proteínas es tratada con iones cúpricos [Cu(II)] en un medio fuertemente alcalino. Se agregan tartrato sódico de potasio y yoduro de potasio para impedir la precipitación de hidróxido de cobre y la autorreducción del cobre, respectivamente.[61] Los iones Cu(II) reaccionan con uniones peptídicas entre los átomos de oxígeno carbonilo y nitrógeno amida para formar un complejo Cu-proteína coloreado.

$$\text{Proteínas totales} + \text{Cu(II)} \xrightarrow{OH^-} \text{Complejo Cu-Proteína}$$

La cantidad de proteínas totales presente en la muestra es directamente proporcional a la absorbancia del complejo Cu-proteína. La prueba de las proteínas totales es un criterio de valoración de la reacción final y la absorbancia se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 850 nm.

Nitrógeno ureico en sangre (BUN)

La urea puede ser medida tanto directa como indirectamente. La reacción de diacetil monoxima, el único método directo para medir la urea, es la usada más comúnmente, pero emplea reactivos peligrosos.[63] Los métodos indirectos miden el amoníaco creado a partir de la urea; el uso de la enzima ureasa aumentó la especificidad de estas pruebas.[64] El amoníaco se cuantifica mediante distintos métodos, entre ellos la nesslerización titulación ácida), la técnica de Berthelot[65,66] y las reacciones enzimáticas acopladas.[67,68] Sin embargo, los procedimientos de Berthelot catalizados son erráticos cuando se mide el amoníaco.[69] Las reacciones enzimáticas acopladas son rápidas, tienen una elevada especificidad para el amoníaco y son las usadas habitualmente. Una de estas reacciones fue propuesta como posible método de referencia.[70]

En la reacción de acoplamiento de enzimas, la ureasa hidroliza la urea en amoníaco y dióxido de carbono. Al combinarse el amoníaco con α-cetoglutarato y la reducción de nicotinamida adenina dinucleótido (NADH), la enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) oxida la NADH en NAD^+.

$$\text{Urea} + H_2O \xrightarrow{\text{Ureasa}} 2NH_3 + CO_2$$

$$NH_3 + \alpha\text{-cetoglutarato} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-glutamato} + H_2O + NAD^+$$

El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD^+ y es directamente proporcional a la cantidad de urea presente en la muestra.

Ácido úrico (UA)

Los primeros métodos cuantitativos para determinar las concentraciones de ácido úrico en sangre se basaron en la reducción del ácido fosfotúngstico a azul de tungsteno en soluciones alcalinas de ácido úrico.[71,72] Se desarrolló una prueba de ácido úrico, con mayor especificidad, utilizando la enzima uricasa, específica para el ácido úrico. Desde entonces, este método ha pasado a ser la técnica química clínica de referencia para el ácido úrico.[73]

El método de la uricasa se acopla a través de un acabado de peroxidasa de Trinder.[74] En este método, la uricasa cataliza la oxidación de ácido úrico a alantoína y peróxido de hidrógeno. La peroxidasa cataliza la reacción entre el peróxido de hidrógeno

(H_2O_2), la 4-aminoantipirina (4-AAP) y el ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibencenosulfónico (DHBSA) en una coloración de rojo quinoneimina. Se agregan ferrocianuro de sodio y ascorbato oxidasa a la mezcla de la reacción para reducir al mínimo la interferencia potencial de la bilirrubina y el ácido ascórbico.

$$\text{Ácido úrico} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Uricasa}} \text{Alantoína} + CO_2 + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{4-AAP} + \text{DHBSA} \xrightarrow{\text{Peroxidasa}} \text{Colorante rojo de quinoneimina} + H_2O$$

La cantidad de ácido úrico en la muestra es directamente proporcional a la absorbancia de la coloración de quinoneimina. La absorbancia final de esta reacción de punto final se mide bicromáticamente a 500 nm y 600 nm.

4. Principios de la operación

Consulte el Manual del usuario del analizador químico xpress de Piccolo para obtener información sobre los principios y limitaciones del procedimiento.

5. Descripción de los reactivos

Reactivos

Cada disco reactivo para panel de bioquímica Plus de Piccolo contiene soportes sólidos reactivos secos específicos para la prueba (descritos a continuación). En cada disco se incluye un reactivo seco de muestra de referencia (con amortiguador, surfactantes, excipientes y estabilizadores) para utilizar en el cálculo de las concentraciones de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina (ALB), fosfatasa alcalina (ALP), amilasa (AMY), aspartato aminotransferasa (AST), proteína C reactiva (CRP), calcio (CA), gamma glutamil transferasa (GGT), glucosa (GLU), proteínas totales (TP), nitrógeno ureico en sangre (BUN) y ácido úrico (UA). En el disco se incluye una muestra de referencia dedicada para calcular la concentración de creatinina (CRE). Cada disco contiene un diluyente que consta de surfactantes y estabilizantes.

Tabla 1: Reactivos

Componente	Cantidad / Disco
Adenosina-5'-trifosfato	12 µg
L-alanina	874 µg
4-Aminoantipirina	27 µg
4-Aminoantipirina clorhidrato	6 µg
CRP antihumano (cabra)	0,3 µg
Látex recubierto de CRP antihumano (ratón)	67 µg
Arsenazo III, sal sódica	3 µg
Ascorbato oxidasa (Cucurbita spp.)	0,4 U
L-ácido aspártico	426 µg
Púrpura de bromocresol	2 µg
2-cloro-4-nitrofenil-α-D-maltotriosida (CNPG3)	36 µg
Creatina amidinohidrolasa (Actinobacillus spp.)	3 U
Creatinina amidohidrolasa (Pseudomonas spp.)	1 U
Sulfato cúprico	210 µg
Ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibencenosulfónico (DHBSA)	37 µg
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (levadura)	0,05 U
Glutamato deshidrogenasa (hígado bovino)	0,01 U
Ácido L-glutámico γ-(3-carboxi-4-nitroanilina), sal de amonio	32 µg
Glicilglicina	317 µg
Hexoquinasa (levadura)	0,1 U
α-cetoglutarato, sal disódica	37 µg
Ácido α-cetoglutárico	72 µg
Lactato deshidrogenasa (corazón de pollo)	0,002 U

Tabla 1: Reactivos (continuación)

Componente	Cantidad / Disco
Lactato deshidrogenasa (Staphylococcus epidermidis)	0,1 U
Acetato de magnesio	7 µg
Cloruro de magnesio	5 µg
Malato deshidrogenasa (MDH) (corazón porcino)	0,01 U
ß-Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD)	20 µg
ß-Nicotinamida adenina dinucleótido, reducida (NADH)	19 µg
p-Nitrofenil fosfato (p-NPP)	67 µg
Peroxidasa (rábano)	0,9 U
Yoduro de potasio	28 µg
Sarcosina oxidasa (microorganismos)	0,7 U
Ferrocianuro de sodio	1 µg
Tartrato sódico de potasio	343 µg
Ácido 2,4,6-Tribromo-3-hidroxibenzoico (TBHBA)	188 µg
Ureasa (haba blanca)	0,05 U
Uricasa (microbiana)	0,04 U
Sulfato de zinc	3 µg
Amortiguadores, surfactantes, excipientes y conservantes	

Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*

- El envase del diluyente del disco reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. Un disco con un contenedor diluyente abierto no puede volver a utilizarse. Asegúrese de que la muestra o la prueba esté colocada en el disco antes de cerrar el cajón.

- Los discos de reactivo usados contienen líquidos del cuerpo humano. Siga las prácticas de seguridad del laboratorio cuando manipule y elimine discos usados.[75] Consulte el Manual del usuario del analizador químico xpress de Piccolo para obtener instrucciones sobre la limpieza de derrames biopeligrosos.

- Los discos reactivos son de plástico y pueden romperse o estallar si se caen. **Nunca** use un disco que se haya caído ya que puede esparcir material biológico peligroso en el interior del analizador.

- El reactivo en soporte sólido puede contener sustancias ácidas o cáusticas. El usuario no entra en contacto con el reactivo en soporte sólido si sigue los procedimientos recomendados. En el caso de que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras caerse y romperse un disco reactivo) se debe evitar la ingestión, el contacto con la piel y la inhalación del mismo.

Instrucciones para la manipulación de los reactivos

Los discos de reactivo pueden usarse inmediatamente después de retirarse del refrigerador, sin calentarlos previamente. No permita que los discos sellados en sus bolsas de aluminio permanezcan a temperatura ambiente más de 48 horas antes del uso. Abra la bolsa de aluminio sellada, retire el disco y use de acuerdo con las instrucciones del Manual del usuario del analizador químico xpress de Piccolo. Deseche los discos no usados transcurridos 20 minutos de la apertura de la bolsa.

Almacenamiento

Almacene los discos de reactivo en sus bolsas selladas a 2-8 °C. No exponga los discos abiertos o sin abrir a la luz solar directa o a temperaturas superiores a los 32 °C. Los discos de reactivo pueden ser usados hasta la fecha de caducidad indicada en el paquete. La fecha de caducidad también aparece codificada en el código de barras impreso en el anillo del código de barras. Si los reactivos han caducado, aparecerá un mensaje de error en la pantalla del analizador químico xpress de Piccolo.

Indicaciones de inestabilidad/deterioro del disco reactivo

Una bolsa rasgada o rota puede permitir que la humedad llegue al disco sin usar y afecte de manera negativa la eficacia del reactivo. No use discos de bolsas dañadas.

6. Instrumento

Consulte el Manual del usuario del analizador químico xpress de Piccolo para recibir información completa sobre el uso del analizador.

7. Obtención y preparación de las muestras

En la sección "Obtención de muestras" del manual del operador del analizador químico xpress de Piccolo se describen las técnicas para la obtención de las muestras.

- El tamaño mínimo de muestra requerido es ~100 µl de sangre entera tratada con heparina-litio, plasma tratado con heparina-litio, suero o material de control. La cámara de muestra del disco reactivo puede contener hasta 120 µl de muestra.

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben homogeneizarse antes de transferir una muestra al disco reactivo. Invierta cuidadosamente el tubo para obtención de muestras varias veces justo antes de transferir la muestra. No agite el tubo para obtención de muestras; esto puede causar hemólisis.

- Las muestras de sangre entera sólo deben obtenerse mediante venopunción y no de la sangre capilar.

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben analizarse en un plazo de tiempo no superior a 60 minutos después de su recogida.[76] Las concentraciones de **glucosa** se ven afectadas por el plazo transcurrido entre el momento en el que el paciente ingirió alimentos y el tipo de muestra obtenida del paciente. Para determinar los resultados de glucosa con precisión, deben obtenerse muestras de un paciente que haya ayunado por lo menos, durante 12 horas. Las concentraciones de glucosa disminuyen aproximadamente 5-12 mg/dl por hora en muestras no centrifugadas almacenadas a temperatura ambiente.[77]

- Para las muestras de sangre o plasma use sólo tubos de recolección de muestras tratados con heparina de litio (tapón verde). Para las muestras de suero use tubos para obtención de muestras sin aditivo (tapón rojo) o tubos separadores de suero (tapón rojo o rojo/negro).

- Las muestras de sangre entera refrigerada pueden causar cambios significativos en la concentración de **aspartato aminotransferasa**, **creatinina** y **glucosa**.[78] La muestra puede separarse en plasma o suero, y almacenarse en tubos de ensayo con tapa a 2-8 °C si la muestra no se analiza en un plazo de tiempo de hasta 60 minutos.

- Comience la prueba en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al disco reactivo.

8. Procedimiento

Materiales suministrados
- Un disco reactivo para Piccolo BioChemistry Panel Plus, PN: 400-1035 (una caja de discos PN 400-0035)

Materiales necesarios pero no suministrados
- Analizador químico xpress de Piccolo
- Con cada analizador químico xpress de Piccolo se suministran pipetas de transferencia de muestras (volumen fijo de aproximadamente 100 µl) y puntas, y pueden solicitarse repuestos a Abaxis.
- Reactivos de control disponibles comercialmente recomendados por Abaxis (póngase en contacto con el Servicio Técnico de Abaxis para solicitar materiales de control homologados y valores de referencia).
- Cronómetro

Parámetros de prueba
El analizador químico xpress de Piccolo opera a temperaturas ambientes entre 15 °C y 32 °C. El tiempo de análisis para cada disco reactivo para panel de bioquímica Plus de Piccolo es menor a 14 minutos. El analizador mantiene el disco reactivo a una temperatura de 37 °C durante el intervalo de medición.

Procedimiento de la prueba
La recolección completa de la muestra y los procedimientos paso por paso se detallan en el Manual del usuario del analizador químico xpress de Piccolo.

Calibración
El analizador químico xpress de Piccolo es calibrado por el fabricante antes de ser enviado. El código de barras impreso en el anillo del código de barras proporciona al analizador los datos de calibración específicos del disco. Ver el Manual del operador del analizador químico xpress de Piccolo.

Control de calidad
Consulte el Manual del usuario del analizador químico xpress de Piccolo para obtener información más detallada sobre la realización, registro, interpretación y extrapolación de los resultados de control.

9. Resultados

El analizador químico xpress de Piccolo calcula automáticamente e imprime las concentraciones de analitos en la muestra. Los detalles de los cálculos del criterio de valoración y velocidad de la reacción se encuentran en el Manual del usuario del analizador químico xpress de Piccolo.

En el Manual del usuario se detalla también la interpretación de los resultados, los cuales se imprimen en la cinta de resultados proporcionadas por Abaxis. La parte posterior de la cinta de resultados es adhesiva para facilitar su colocación en los archivos del paciente.

10. Limitaciones del procedimiento

Las limitaciones generales del procedimiento se detallan en el Manual del usuario del analizador químico xpress de Piccolo**.**

- El único anticoagulante **recomendado para su uso** con el sistema de analizador químico xpress de Piccolo es **heparina-litio**. No utilice heparina sódica. Abaxis ha realizado estudios que demuestran que EDTA, fluoruro, oxalato y cualquier otro anticoagulante que contenga iones de amoníaco interferirán con, por lo menos, un producto químico contenido en el disco reactivo para panel de bioquímica Plus de Piccolo.

- Las muestras con hematocritos que superan el 62-65% del volumen concentrado de eritrocitos (una fracción de volumen de 0,62-0,65) pueden dar resultados falsos. Las muestras con un hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden ser centrifugadas para obtener plasma y luego realizar la prueba con un nuevo disco reactivo.

- La CRP es una proteína de "fase aguda" y se eleva de forma no específica en respuesta a la inflamación. La variación intraindividual de la proteína C reactiva es significativa (30 a 60%) y debe tomarse en cuenta al interpretar valores.[31] Puede ser necesario realizar mediciones en serie para estimar la media real de la proteína C reactiva en cualquier individuo concreto.

- Los anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA) hasta 115 ng/ml no causa interferencias. Las muestras de pacientes que hayan recibido preparados que incluyan anticuerpos monoclonales de ratón para el diagnóstico o el tratamiento pueden contener HAMA.

- El factor reumatoide, con una concentración de hasta 644 U/ml, no causa interferencias.

- No se ha observado ningún efecto de saturación a dosis altas (efecto prozona) en este ensayo para concentraciones de CRP de hasta 1.000 mg/l.

- **Todo resultado para una prueba particular que supere los valores del análisis deberá analizarse por otro método de prueba homologada o ser enviado a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra ni vuelva a analizarla en el analizador químico xpress de Piccolo.**

  Advertencia: Pruebas exhaustivas del sistema de analizador químico xpress de Piccolo han demostrado que, en casos muy raros, la muestra aplicada al disco reactivo podría no fluir con facilidad a la cámara de la muestra. Debido al flujo irregular, puede analizarse una cantidad inadecuada de muestra y los resultados obtenidos pueden quedar fuera de los valores de referencia. La muestra puede volverse a analizar con un nuevo disco reactivo.

Interferencia
Se probaron sustancias como factores de interferencia con los analitos. Se prepararon mezclas de suero humano. Cada obstáculo potencial se evaluó a una concentración basada en los niveles de prueba en la directriz EP7-P[79] (excepto CRP) del CLSI (antiguamente NCCLS) y la directriz EP7-A[80] (CRP) del CLSI.

Efectos de las sustancias endógenas

- Los factores de interferencia fisiológicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) provocan cambios en las concentraciones analizadas de algunos analitos. Los índices de la muestra están impresos en la base de cada cinta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de factores de interferencia presentes en cada muestra.

- El analizador químico xpress de Piccolo suprime cualquier resultado que sea afectado por más del 10% de interferencia por hemólisis, lipidemia o ictericia. En lugar del resultado, la cinta tendrá impreso "HEM", "LIP" o "ICT" respectivamente.

- Para el método CRP, los niveles de sustancias endógenas que desencadenan las supresiones de HEM, LIP o ICT son de 750 mg/dl para la hemoglobina, 750 mg/dl para la lipemia y 35 mg/dl para la bilirrubina.

- Póngase en contacto con el Servicio Técnico de Abaxis para obtener información acerca de los niveles máximos de sustancias endógenas.

Efectos de las sustancias exógenas y terapéuticas

Se seleccionaron sustancias exógenas y terapéuticas como interferentes potenciales para los métodos de prueba de Abaxis sobre la base de las recomendaciones de Young.[81] Se define a la interferencia significativa como un desvío superior al ± 10% en el resultado para una muestra en límites normales. Las mezclas de suero humano fueron enriquecidas con concentraciones conocidas de los fármacos o químicos, y luego analizadas. Consulte la Tabla 2 para ver una lista de las sustancias exógenas y terapéuticas evaluadas. **Consulte la TABLA 3 para ver una lista de los analitos donde se observó interferencia.**

Tabla 2: Sustancias exógenas y terapéuticas evaluadas

Interferente potencial	Concentración máxima probada[A] (mg/dl salvo donde se indiquen otras unidades)
Paracetamol	100
Acetoacetato	102
Ácido acetilsalicílico	50
Ampicilina	30
Ácido ascórbico (excepto CRP)	20
Ácido ascórbico (sólo CRP)	3
Cafeína	10
Cloruro de calcio (excepto CRP)	20
Cloruro de calcio (sólo CRP)	ND
Cefalotina (Keflin)	400
Cloranfenicol	100
Cimetidina	16
L-dopa	5
Dopamina (excepto CRP)	19
Dopamina (sólo CRP)	13
Epinefrina	1
Eritromicina	10
Glutationa	30
Hidroclorotiazida	7,5
Ibuprofeno	50
Isoniacida	4
α-cetoglutarato (excepto CRP)	5
α-cetoglutarato (sólo CRP)	ND
Cetoprofen	50
Lidocaína	1
Lactato (excepto CRP)	230
Lactato de litio (sólo CRP)	84
Meticilina	100
Metotrexato	0,5
Metildopa (sólo AST, GLU, TP y UA)	0,5
Metildopa (todos los demás)	ND

Tabla 2: Sustancias terapéuticas o exógenas evaluadas (continuación)

Interferente potencial	Concentración máxima probada[A] (mg/dl salvo donde se indiquen otras unidades)
Metronidazol	5
Nafcilina	1
Nitrofurantoína	20
Oxacilina	1
Oxaloacetato	132
Penicilina G	100
Fenitoína (5,5-Difenilhidantoína)	3
Prolina	4
Piruvato (excepto CRP)	44
Piruvato (sólo CRP)	ND
Rifampina (sólo AST, GLU, TP y UA)	1,5
Rifampina (todos los demás)	0,5
Ácido salicílico (excepto CRP)	25
Ácido salicílico (sólo CRP)	50
Sulfasalazina (excepto CRP)	10
Sulfasalazina (sólo CRP)	ND
Sulfadiazina (excepto CRP)	ND
Sulfadiazina (sólo CRP)	150
Sulfanilamida	50
Teofilina	20

[A] ND = no realizado

Tabla 3: Las siguientes sustancias mostraron un desvío superior al ± > 10% en el resultado para una muestra en límites normales.

	Concentración que produce una interferencia > 10%	% de interferencia[B] observado
Alanina aminotransferasa (ALT)		
Ácido ascórbico	20	11% aum.
Oxaloacetato	132	843% aum.
Albúmina (ALB)		
Acetoacetato	102	18% dism.
Ampicilina	30	12% dism.
Cafeína	10	14% dism.
Cloruro de calcio	20	17% dism.
Cefalotina (Keflin)	400	13% aum.
Ibuprofeno	50	28% aum.
α-cetoglutarato	5	11% dism.
Nitrofurantoína	20	13% dism.
Prolina	4	12% aum.
Sulfasalazina	10	14% dism.
Sulfanilamida	50	12% dism.
Teofilina	20	11% dism.
Fosfatasa alcalina (ALP)		
Teofilina	20	42% dism.

Tabla 3: Las siguientes sustancias mostraron una desviación superior al ± >10% (continuación)

	Concentración que produce una interferencia > 10%	% de interferencia[B] observado
Proteína C reactiva		
Glutationa	30	13% dism.
Isoniacida	4	16% dism.
L-dopa	5	28% dism.
Oxaloacetato	132	57% dism.
Creatinina (CRE)		
Ácido ascórbico	20	11% dism.
Dopamina	19	80% dism.
L-dopa	5	71% dism.
Epinefrina	1	45% dism.
Glutationa	30	13% dism.
Glucosa (GLU)		
Oxaloacetato	132	11% dism.
Piruvato	44	13% dism.
Ácido úrico		
Ácido ascórbico	20	13% dism.
Epinefrina	1	14% dism.
L-dopa	5	78% dism.
Metildopa	0,5	12% dism.
Rifampina	1,5	14% dism.
Ácido salicílico	25	20% dism.

[B] dism. = disminución en la concentración del sustrato especificado; aum. = aumento en la concentración del sustrato especificado

11. Valores esperados

Se usaron muestras de un total de 193 adultos varones y mujeres, analizadas en el analizador químico sanguíneo de Piccolo para determinar los intervalos de referencia de ALT, albúmina, ALP, amilasa, calcio, creatinina, glucosa, proteínas totales y BUN. Se usaron muestras de un total de 186 adultos varones y mujeres para determinar el intervalo de referencia de la AST y el ácido úrico. Se usaron muestras de un total de 131 adultos varones y mujeres para determinar el intervalo de referencia de la GGT. Los límites que se indican a continuación para estos analitos se calcularon según el intervalo de referencia del 95% estimado de los valores combinados (globales) obtenidos de los sujetos de referencia. Se analizaron las muestras de un total de 69 hombres y mujeres adultos en el analizador químico xpress de Piccolo para CRP. El intervalo CRP se basó en la transferabilidad demostrada de los intervalos de referencia para el Beckman.[82] Estos rangos sólo se ofrecen como guía. Se recomienda que su consultorio o institución establezca los rangos normales para su población de pacientes en particular.

Tabla 4: Intervalos de referencia de Piccolo

Analito	Unidades comunes	Unidades SI
Alanina aminotransferasa (ALT)	10-47 U/l	10-47 U/l
Albúmina (ALB)	3,3-5,5 g/dl	33-55 g/l
Fosfatasa alcalina (ALP)		
Hembra	42-141 U/l	42-141 U/l
Macho	53-128 U/l	53-128 U/l
Amilasa (AMY)	14-97 U/l	14-97 U/l
Aspartato aminotransferasa (AST)	11-38 U/l	11-38 U/l
Proteína C reactiva	<7,5 mg/l	<7,5 mg/l
Calcio (CA)	8,0-10,3 mg/dl	2,00-2,58 mmol/l
Creatinina	0,6-1,2 mg/dl	53-106 µmol/l
Gamma glutamil transferasa (GGT)	5-65 U/l	5-65 U/l
Glucosa	73-118 mg/dl	4,1-6,6 mmol/l
Proteínas totales (TP)	6,4-8,1 g/dl	64-81 g/l
Nitrógeno ureico en sangre (BUN)	7-22 mg/dl	2,5-7,9 mmol/l
Ácido úrico (UA)		
Hembra	2,2-6,6 mg/dl	131-393 µmol/l
Macho	3,6-8,0 mg/dl	214-476 µmol/l

12. Características de eficacia

Linealidad

La química para cada analito es lineal a lo largo del intervalo dinámico enumerado a continuación cuando el analizador químico xpress de Piccolo se opera de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario del analizador químico xpress de Piccolo).

Tabla 5: Límites dinámicos de Piccolo

Analito	Unidades comunes	Unidades SI
Alanina aminotransferasa (ALT)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Albúmina (ALB)	1-6,5 g/dl	10-65 g/l
Fosfatasa alcalina (ALP)	5-2400 U/l	5-2400 U/l
Amilasa (AMY)	5-4000 U/l	5-4000 U/l
Aspartato aminotransferasa (AST)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Proteína C reactiva	5,0-200,0 mg/l	5,0-200,0 mg/l
Calcio	4,0-16,0 mg/dl	1,0-4,0 mmol/l
Creatinina	0,2-20 mg/dl	18-1768 µmol/l
Gamma glutamil transferasa (GGT)	5-3000 U/l	5-3000 U/l
Glucosa	10-700 mg/dl	0,6-38,9 mmol/l
Proteínas totales (TP)	2-14 g/dl	20-140 g/l
Nitrógeno ureico en sangre (BUN)	2-180 mg/dl	0,7-64,3 mmol/l
Ácido úrico	1-15 mg/dl	100-900 µmol/l

Si la concentración del analito es superior al intervalo de medición (límites dinámicos), pero inferior al intervalo del sistema, en la cinta impresa se indicarán un signo “>” en el límite superior y un asterisco detrás del número, por ejemplo, ALT >2000* U/l. Si es inferior al intervalo dinámico, se imprimirá “<” con un asterisco, por ejemplo, ALT <5* U/l. Para valores que tengan un valor enormemente más alto que el intervalo de medición (intervalo del sistema), se imprimirá “~~~” en lugar del resultado. Cada vez que aparezca “~~~” en la cinta impresa, recoja una muestra nueva y realice de nuevo la prueba. Si los resultados de la segunda muestra se vuelven a suprimir, póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Abaxis.

Sensibilidad (límites de detección)

El límite inferior del intervalo informable (dinámico) para cada analito es: alanina aminotransferasa 5 U/l; albúmina 1 g/dl (10 g/l); fosfatasa alcalina 5 U/l; amilasa 5 U/l; aspartato aminotransferasa 5 U/l; proteína C reactiva 5,0 mg/l; calcio 4,0 mg/dl (1,0 mmol/l); creatinina 0,2 mg/dl (18 µmol/l); gamma glutamil transferasa 5 U/l; glucosa 10 mg/dl (0,6 mmol/l); proteínas totales 2 g/dl (20 g/l); nitrógeno ureico en sangre 2,0 mg/dl (0,7 mmol/l) y ácido úrico 1 mg/dl (100 µmol/l).

Precisión

Se condujeron estudios de precisión de acuerdo con las recomendaciones EP5-T2[83] del CLSI (excepto CRP) y las directrices EP5-A[84] con modificaciones según la directriz EP18-A[85] del CLSI para dispositivos usados en unidad. Los resultados para la precisión intraserial y total se determinaron mediante dos niveles de materiales de referencia disponibles comercialmente. Los estudios utilizaron múltiples instrumentos. Las pruebas de ALT, AST, albúmina, ALP, amilasa, calcio, creatinina, GGT, glucosa, proteínas totales, BUN y ácido úrico se realizaron en dos sitios con dos lotes de discos reactivos durante 20 días. Las pruebas de proteína C reactiva se realizaron con un lote de discos reactivos durante cinco días; suero 1, control 1 y control 2 se realizaron en dos sitios; suero 2, suero 3, plasma 1 y plasma 2 se realizaron en un sitio.

Los resultados de los estudios de precisión se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6: Precisión

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Alanina aminotransferasa (U/l)			
Control 1	N = 80		
Media		21	21
DE		2,76	2,79
%CV		13,4	13,5
Control 2	N = 80		
Media		52	52
DE		2,70	3,25
%CV		5,2	6,2
Albúmina (g/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		5,6	5,6
DE		0,09	0,11
%CV		1,7	2,1
Control 2	N = 80		
Media		3,7	3,7
DE		0,07	0,11
%CV		2,0	2,9
Fosfatasa alcalina (U/l)			
Control 1	N = 80		
Media		39	39
DE		1,81	2,29
%CV		4,6	5,8
Control 2	N = 80		
Media		281	281
DE		4,08	8,75
%CV		1,5	3,1
Amilasa (U/l)			
Control 1	N = 80		
Media		46	46
DE		2,40	2,63
%CV		5,2	5,7
Control 2	N = 80		
Media		300	300
DE		11,15	11,50
%CV		3,7	3,8
Aspartato aminotransferasa (U/l)			
Control 1	N = 80		
Media		47	47
DE		0,98	1,84
%CV		2,1	3,9
Control 2	N = 80		
Media		145	145
DE		1,83	4,62
%CV		1,3	3,2

Tabla 6: Precisión (continuación)

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Proteína C reactiva (mg/l)			
Suero 1	N = 80		
Media		8,3	8,3
DE		0,70	0,81
%CV		8,4	9,8
Suero 2	N = 40		
Media		8,1	8,1
DE		0,49	0,51
%CV		6,1	6,3
Suero 3	N = 40		
Media		8,8	8,8
DE		0,54	0,54
%CV		6,2	6,2
Plasma 1	N = 40		
Media		34,5	34,5
DE		1,04	1,09
%CV		3,0	3,2
Plasma 2	N = 40		
Media		105,5	105,5
DE		2,06	2,30
%CV		1,9	2,2
Control 1	N = 80		
Media		33,0	33,0
DE		1,21	2,12
%CV		3,7	6,4
Control 2	N = 80		
Media		108,0	108,0
DE		1,88	3,14
%CV		1,7	2,9
Calcio (mg/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		8,6	8,6
DE		0,21	0,25
%CV		2,4	2,9
Control 2	N = 80		
Media		11,8	11,8
DE		0,39	0,40
%CV		3,3	3,4
Creatinina (mg/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		1,1	1,1
DE		0,14	0,14
%CV		12,5	13,1
Control 2	N = 80		
Media		5,2	5,2
DE		0,23	0,27
%CV		4,4	5,2
Gamma glutamil transferasa (U/l)			
Control 1	N = 80		
Media		25	25
DE		0,59	0,74
%CV		2,3	2,9
Control 2	N = 80		
Media		106	106
DE		1,52	2,29
%CV		1,4	2,2

Tabla 6: Precisión (continuación)

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Glucosa (mg/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		66	66
DE		0,76	1,03
%CV		1,1	1,6
Control 2	N = 80		
Media		278	278
DE		2,47	3,84
%CV		0,9	1,4
Proteínas totales (g/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		6,8	6,8
DE		0,05	0,08
%CV		0,8	1,2
Control 2	N = 80		
Media		4,7	4,7
DE		0,09	0,09
%CV		2,0	2,0
Nitrógeno ureico en sangre (mg/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		19	19
DE		0,35	0,40
%CV		1,9	2,1
Control 2	N = 80		
Media		65	65
DE		1,06	1,18
%CV		1,6	1,8
Ácido úrico (mg/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		3,8	3,8
DE		0,15	0,18
%CV		4,0	4,8
Control 2	N = 80		
Media		7,5	7,5
DE		0,24	0,29
%CV		3,2	3,9

Correlación

Las muestras de suero y de sangre entera tratadas con heparina-litio de los pacientes se extrajeron de dos sitios. Las muestras de sangre entera se analizaron con el analizador químico de sangre Piccolo en los sitios de campo y las muestras séricas se analizaron mediante métodos de comparación. En los dos casos, se utilizaron los resultados de las pruebas de las muestras séricas con Piccolo y éstos fueron indicados convenientemente en la tabla. En algunos casos, se usaron muestras muy y poco enriquecidas para cubrir el rango dinámico. Para CRP, las muestras se recogieron de los pacientes en un sitio. Las muestras de plasma tratadas con heparina-litio se analizaron con el analizador químico xpress de Piccolo y un método de comparación. Las muestras se han elegido para que cumplan los valores de distribución en la directriz EP9-A2 del CLSI.[86] Todas las muestras se probaron en singlicato el mismo día con Abaxis y métodos de comparación. En la tabla 7 se muestran las estadísticas de correlación representativas.

Tabla 7: Correlación del analizador químico sanguíneo de Piccolo o el analizador químico xpress de Piccolo (para CRP) con métodos de comparación

	Coeficiente de correlación	Pendiente	Intercep-ción	VER	N	Límites de la muestra	Método de comparación
Alanina	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10-174	Paramax®
Aminotransferasa (U/l)	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10-174	Technicon

Tabla 7: Correlación (continuación)

	Coeficiente de correlación	Pendiente	Intercep-ción	VER	N	Límites de la muestra	Método de comparación
Albúmina (g/dl)	0,854 0,896	1,001 0,877	-0,3 -0,1	0,22 0,21	261 100	1,1-5,3 1,5-5,0	Paramax Beckman
Fosfatasa alcalina (U/l)	0,988 0,929	0,970 1,136	-5,9 -17,6	3,97 4,79	99 80	27-368 26-150	Paramax Technicon
Amilasa (U/l)	0,979 0,963	0,692 1,065	-4,7 -4,1	3,11 3,47	99 80	11-92 19-118	Paramax Technicon
Aspartato aminotransferasa (U/l)	0,93 1,0	0,87 0,97	5,3 3,0	2,76 1,90	159 46	13-111 13-252	Paramax DAX™
Proteína C reactiva (mg/l)	0,998	0,990	-0,4	4,60	113	5,4-198,6	Beckman
Calcio (mg/dl)	0,991* 0,673	0,990 0,742	-0,4 1,8	0,17 0,22	25 81	5,2-11,9 8,1-9,9	Paramax Beckman
Creatinina (mg/dl)	0,993 0,987	0,926 0,866	0,0 0,1	0,15 0,16	260 107	0,4-14,7 0,4-7,5	Paramax Beckman
Gamma glutamil transferasa (U/l)	1,0 1,0**	0,98 1,60	-0,4 3,1	3,29 18,57	135 49	5-312 27-1848	Paramax Beckman
Glucosa (mg/dl)	0,987 0,997	1,009 0,943	-2,8 1,2	3,89 4,69	251 91	72-422 56-646	Paramax Beckman
Proteínas totales (g/dl)	0,849 0,873	0,932 0,935	0,6 0,3	0,19 0,16	251 92	5,7-9,2 6,5-9,2	Paramax Beckman
Nitrógeno ureico en sangre (mg/dl)	0,964 0,983	0,923 0,946	0,5 0,0	1,08 0,66	251 92	6-52 6-38	Paramax Beckman
Ácido úrico (mg/dl)	0,979 0,975	0,958 0,908	-0,3 -0,6	0,20 0,31	159 44	1,4-7,6 2,1-12,1	Paramax DAX

* Las muestras séricas de pacientes hospitalizados proporcionaron un rango de muestra más amplio, y posiblemente más útil, que las muestras de sangre entera venosa de pacientes ambulatorios. Las estadísticas de correlación para las pruebas del calcio de Piccolo corresponden a estas muestras de suero.

** Un sitio utilizó solamente suero en el analizador Piccolo para la correlación de gamma glutamil transferasa.

Tabla 8: Correlación de tipo de muestra para CRP

Para el método de prueba CRP, el análisis de regresión de Deming para el tipo de muestra obtuvo los siguientes resultados para n = 21.

Eje Y	Eje X	R^2	Pendiente	Intercepción
Plasma tratado con heparina-litio	Sangre entera tratada con heparina-litio	1,000	0,995	0,2
Suero	Sangre entera tratada con heparina-litio	0,999	1,005	0,5
Suero	Plasma tratado con heparina-litio	0,999	1,010	0,3

No se observaron diferencias significativas para CRP entre los resultados correspondientes a la sangre entera tratada con heparina-litio, el plasma tratado con heparina-litio y el suero.

13. Bibliografía

1. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol 1957; 28: 56-63.
3. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980; 18: 521-534.
6. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. J Biol Chem 1921; 49: 93-107.
7. Howe PE. The determination of proteins in blood — a micro method. J Biol Chem 1921; 49: 109-113.
8. Wolfson WQ, et al. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. Am J Clin Pathol 1948; 18: 723-730.
9. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. Clin Chem 1961; 7: 626-636.
10. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. Clin Chem 1966; 12: 414-417.
11. Gendler SM, Albumin. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1029-1033.
12. Webster D, Bignell AHC, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974; 53: 101-108.
13. Louderback A, Mealey EH, Taylor NA. A new dye-binding technic using bromcresol purple for determination of albumin in serum. Clin Chem 1968; 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromcresol purple. Clin Chem 1978; 24: 80-86.
15. King EJ, Armstrong AR. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. Can Med Assoc J 1934; 31: 376-381.
16. Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. J Clin Pathol 1954; 7: 322-326.
17. Ohmori Y. Uber die Phosphomonoesterase. Enzymologia 1937; 4: 217-231.
18. Fujita H. Uber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan 1939; 30: 69-87.
19. Petitclerc C, et al. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975; 53: 1089-1100.
20. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983; 29: 751-761.
21. Bowers GN Jr, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1979; 98: 163F-174F.
22. McNeely MDD. Amylase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 906-909.
23. Zinterhofer L, et al. Nephelometric determination of pancreatic enzymes. I. Amylase. Clin Chim Acta. 1973; 43: 5-12.
24. Centers for Disease Control (CDC). Alpha-amylase methodology survey I. Atlanta: US Public Health Service; Nov, 1975.
25. Somogyi M. Modifications of two methods for the assay of amylase. Clin Chem 1960; 6: 23-35.
26. Gillard BK, Markman HC, Feig SA. Direct spectro-photometric determination of α-amylase activity in saliva, with p-nitrophenyl α-maltoside as substrate. Clin Chem 1977; 23: 2279-2282.
27. Wallenfels K, et al. The enzymic synthesis, by transglucosylation of a homologous series of glycosidically substituted malto-oligosaccharides, and their use as amylase substrates. Carbohydrate Res 1978; 61: 359-368.
28. Karmen A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. J Clin Invest 1955; 34: 131-133.
29. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1977; 23: 887-899.
30. Bergmeyer HU, et al.. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1978; 24: 720-721.
31. Macy E, Hayes T, Tracy R. Variability in the measurement of c-reactive protein in healthy subjects: implications for reference interval and epidemiological applications. Clin Chem 1997; 43: 52-58.

13. Bibliografía (continuación)

32. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. Clin Chem 1999; 45: 2136-2141.
33. Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper-Anderson M, Savory J, Rifai N. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. Clin Chem 2001; 47: 418–425.
34. Kramer B, et al. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. J Biol Chem 1921; 47: 475-481.
35. Clark EP, et al. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. J Biol Chem 1925; 63: 461-464.
36. Katzman E, et al. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. J Biol Chem. 1937; 118: 539-544.
37. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 8. Cooper GR, ed. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1997: 3-8.
38. Kessler G, M Wolfman. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964; 10: 686-703.
39. Michaylova V, et al. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971; 53: 194-198.
40. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. Ann NY Acad Sci 1978; 307: 86-112.
41. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbetimmung im serum. Z Klin Chem Klin Biochem 1970; 8: 582-587.
42. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the “true” creatinine concentration in serum and urine. J Clin Chem Clin Biochem 1980; 18: 385-394.
43. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. Clin Chem 1975; 21: 1422-1426.
44. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. Clin Chem 1982; 28: 114-117.
45. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. Clin Chem 1983; 29: 1494-1496.
46. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994; 1513-1575.
47. National Kidney Disease Education Program (NKDEP). Creatinine Standardization. http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/creatinine_standardization.htm (Accessed September 2010).
48. National Kidney Disease Education Program (NKDEP) Creatinine Standardization Recommendations. IVD Manufacturers. http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/IVD_Manufacturers.htm (Accessed September 2010).
49. National Kidney Foundation. GFR Calculator. http://www.kidney.org/professionals/kls/gfr_calculator.cfm (Accessed September 2010).
50. Ball, EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ-glutamyl transpeptidase activity. J Biol Chem 1956; 221: 895-908.
51. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ-glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. Arch Biochem Biophys 1960; 91: 61-70.
52. Orlowski M, Meister A. γ-Glutamyl-*p*-nitroanilide: a new convenient substrate for determination and study of L- and D-γ-glutamyltranspeptidase activities. Biochim Biophys Acta 1963; 73: 679-681
53. Persijn JP, van der Slik W. A new method for the determination of γ-glutamyltransferase in serum. J Clin Chem Clin Biochem 1976; 14: 421-427.
54. Shaw LM, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4. IFCC method for γ-glutamyltransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1983; 21: 633-646.
55. Folin O, et al. A system of blood analysis. J Biol Chem 1919; 38: 81-110.
56. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem 1937; 117: 771-776.
57. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol 1944; 153: 375-380.
58. Kaplan LA. Glucose. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989; 850-856.
59. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
60. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. Z Anal Chem 1914; 53: 242-245.
61. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 1946; 16: 40-49.
62. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin Chem 1981; 27: 1642-1650.

13. Bibliografía (continuación)

63. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982; 365-373.
64. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. J Biol Chem 1914; 19: 211-228.
65. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. J Clin Pathol 1960; 13: 156-159.
66. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. Clin Chem 1962; 8: 130-132.
67. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut and serum im optischen test nach Warburg. Klin Wochensch 1965; 43: 174-175.
68. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta 1971; 35: 33-37.
69. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal Chem 1977; 49: 464-469.
70. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. Clin Chem 1980; 26: 816-826.
71. Folin O, Denis W. A new (colorimetric) method for the determination of uric acid in blood. J Biol Chem 1912-1913; 13: 469-475.
72. Brown H. The determination of uric acid in human blood. J Biol Chem 1945; 158: 601-608.
73. Feichtmeir TV, Wrenn HT. Direct determination of uric acid using uricase. Am J Clin Pathol 1955; 25: 833-839.
74. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxy-benzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. Clin Chem 1980; 26: 227-231.
75. Clinical and Laboratory Standards Institute. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. CLSI Document POL1-T2. Wayne, PA: CLSI, 1992.
76. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. CLSI Document H18-A2. Wayne, PA: CLSI, 1999.
77. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta 1972; 39: 35-40.
78. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 1988; 34-2111-4.
79. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Document EP7-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
80. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Publication EP7-P. Wayne, PA: CLSI, 1986.
81. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
82. Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2nd ed. CLSI Document C28-A3. Wayne, PA: CLSI, 2008.
83. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; tentative guideline – second edition. CLSI Document EP5-T2. Wayne, PA: CLSI, 1992.
84. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. CLSI Document EP5-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.
85. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. CLSI Document EP18-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
86. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. CLSI Document EP9-A2. Wayne, PA: CLSI, 2002.